

THERAPEUTIC AGENT FOR ISCHEMIC DISEASE

Patent number: JP2000016942
Publication date: 2000-01-18
Inventor: KONISHI JINEMON; FUKUHARA HIROKI
Applicant: NIPPON ZOKI PHARMACEUTICAL CO
Classification:
- international: A61K35/36; A61K9/08; A61P9/00
- european:
Application number: JP19990118622 19990426
Priority number(s): JP19990118622 19990426; JP19980134619 19980427

Report a data error here

Abstract of JP2000016942

PROBLEM TO BE SOLVED: To prepare a therapeutic agent for ischemic disease, developing action of inhibiting abnormal depolarization of neurocyte in an ischemic state expressed only in a pathological condition caused by anoxia, having little side-effect and useful as the therapeutic agent for ischemic cerebropathia by including inflammatory tissue extract inoculated with vaccinia virus. **SOLUTION:** This therapeutic agent for ischemic disease contains inflammatory tissue extract inoculated with vaccinia virus (pref. inflammatory skin tissue extract of a rabbit inoculated with vaccinia virus) as an active principle. The agent can be administered as a injection, an oral preparation, etc., and its does is basically 16 Neurotropin unit(NU)/day orally and 3.6-7.2 NU/day by injection according to Drugs in Japan.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-16942

(P2000-16942A)

(43) 公開日 平成12年1月18日 (2000.1.18)

(51) Int.Cl.	識別記号	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 35/36		A 6 1 K 35/36	
9/08		9/08	
A 6 1 P 9/00		31/00	6 0 9

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号	特願平11-118622	(71) 出願人	000231796 日本臓器製薬株式会社 大阪府大阪市中央区平野町2丁目1番2号
(22) 出願日	平成11年4月26日 (1999.4.26)	(72) 発明者	小西 甚右衛門 東京都武蔵野市吉祥寺東町3丁目21番13号
(31) 優先権主張番号	特願平10-134619	(72) 発明者	福原 弘紀 兵庫県加東郡社町木梨字川北山442番1
(32) 優先日	平成10年4月27日 (1998.4.27)		日本臓器製薬株式会社生物活性科学研究所 内
(33) 優先権主張国	日本 (J P)	(74) 代理人	100068917 弁理士 村山 佐武郎

(54) 【発明の名称】 虚血性疾患治療剤

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 副作用が少なく安心して投与可能な虚血性疾患治療剤を提供する。

【解決手段】 本発明虚血性疾患治療剤の有効成分はワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物である。

【効果】 ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物は低酸素状態における海馬体・錐体細胞の異常な脱分極を抑制することで細胞障害を防御し、細胞死への移行を遅延する優れた作用を有する。この作用は正常な錐体細胞に対してはみられず、低酸素負荷による病態時にのみ発現することを特徴とするものである。従って、本発明物質は脳梗塞等の虚血性疾患並びに虚血による神経障害に起因した随伴症状を治療・予防する薬剤として有用なものである。

【整理番号】 PC-288

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物を有効成分として含有する虚血性疾患治療剤。

【請求項2】 虚血性脳疾患治療剤である請求項1記載の虚血性疾患治療剤。

【請求項3】 炎症組織が皮膚組織である請求項1又は2記載の薬剤。

【請求項4】 ウサギの炎症皮膚組織である請求項3記載の薬剤。

【請求項5】 注射剤である請求項1乃至4のいずれか一項記載の薬剤。

【請求項6】 経口剤である請求項1乃至4のいずれか一項記載の薬剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物の新規な薬理作用に関するものであり、具体的にはワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物を有効成分として含有する虚血性疾患治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 脳が虚血に陥ると神経細胞の障害が起こり壊死に至る。これは虚血により脳への酸素、エネルギーの供給が断たれるからであり、その結果、個々の細胞はその恒常性を保つことができなくなるためである。脳組織が虚血性病変により不可逆的に壊死に陥っている状態を脳梗塞といい、原因として脳血栓と脳塞栓が挙げられている。前者は脳を灌流する動脈に動脈硬化性病変が進行して血管狭窄が起こり血栓形成を伴って血管閉塞をきたしたものであり、後者は心臓疾患に起因する心臓の壁に血栓や大動脈、頸部動脈のアテローム病変に加わった血栓が剥離して脳に運ばれ、脳動脈を栓塞して起こるものである。

【0003】 従来より神経細胞が虚血に対して脆弱であることは臨床的にもよく認識されており、ある種の神経細胞はわずか数分の虚血によっても障害を受けて細胞死に至る。低酸素モデルは臨床における急性期の虚血状態を想定したもので、脳神経細胞を用いた場合、脳卒中等のモデルとして汎用されている。虚血状態の海馬体・錐体細胞では、脱分極に伴う顕著な神経興奮の後、伝導ブロックが生じる。その後、細胞外グルタミン酸、細胞内カルシウムイオンやフリーラジカルなどの増加に伴う細胞毒性により細胞は障害され、細胞機能を失い細胞死に至るとされている。従って、このような虚血状態での神経障害の過程において、神経細胞の脱分極を抑制する薬剤は虚血性疾患を治療・予防する薬剤として有用なものである。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 本発明者らは、ワクシ

ニアウイルス接種炎症組織抽出物の薬理活性に関して種々の試験研究を行った結果、該物質が虚血状態における神経細胞の異常な脱分極を抑制する新規な作用を有することを見出した。本発明物質で確認されたこの新しい薬理作用は、正常な状態では認められず低酸素による病態時にのみ発現するという優れた特徴を有するものである。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明の目的は、病態時にのみ薬効を発現するため、副作用が少なく安心して投与可能な虚血性疾患治療剤を提供することにある。

【0006】

【発明の実施の形態】 ウイルス等の外界からの侵襲や内的な病態状態の進行に対して、過剰反応に対する抑制作用と機能低下に対する増強作用という二相性をもって生体はその恒常性を維持し、生体機能を調整し正常化するために種々の生体機能調整物質を産生することが知られている。例えばワクシニアウイルスを接種した炎症組織において産生される生体機能調整物質、該物質を病態組織から抽出する製造方法並びにそれらの薬理活性については種々報告されている（特公昭63-39572号公報、特公昭63-25600号公報、特公平3-43279号公報、特許第2594222号公報など）。

【0007】 また実際の医薬品としてはワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出物製剤がある。この製剤は例えば医療薬日本医薬品集（1994年8月版、日本医薬情報センター編、薬業時報社発行）の1434頁に記載されているように、ワクシニアウイルスを接種した家兎の炎症皮膚組織から抽出分離した非蛋白性の活性物質を含有する薬剤であり、腰痛症、頸肩腕症候群、肩関節周囲炎、変形性関節症、症候性神経痛、皮膚疾患（湿疹、皮膚炎、じんま疹）に伴う掻痒、アレルギー性鼻炎、スモン後遺症状の冷感、痛み、異常知覚等に対する適応が認められており、皮下、筋注、静注用の注射剤並びに錠剤が医療用医薬品として製造承認を受けて市販されている。

【0008】 本発明虚血性疾患治療剤の有効成分は上述したようなワクシニアウイルス接種炎症組織から抽出した非蛋白性の生体機能調整物質であり、前記の医療薬日本医薬品集にも掲載されているワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出物製剤は医薬品の製造承認を受け市販されており入手可能である。また上述した特許公報等の文献に記載されている種々のワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物が本発明物質として利用でき、それらの製造方法や好ましい投与量なども文献中に説明されている。

【0009】 患者に対する投与方法は、注射剤による皮下、筋注、静注投与並びに錠剤による経口投与が市販薬剤では認められているが、その他疾患の種類に応じて、その治療に最適な上記以外の剤形による投与方法も可能

である。投与量はワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物の種類によって適宜設定すべきであるが、市販製剤で認められている投与量は、前記の医療薬日本医薬品集

(1434頁)によれば、基本的には内服では1日16ノイロトロビン単位(NU)、注射剤では1日3.6乃至7.2NUを投与するよう医療用医薬品としては示されているが、疾患の種類、重症度、患者の個人差、投与方法、投与期間等によって適宜増減可能である。

【0010】以下に、ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物の新規な薬理作用に関する試験結果を示す。

【0011】

【実施例】(1) 海馬体・錐体細胞を用いた低酸素モデルの試験系

体重140乃至200gの雄性ウイスター系ラットから摘出した脳を、95%酸素+5%二酸化炭素の混合ガスで通気して平衡化した4℃の人工脳脊髄液(124mM塩化ナトリウム、5mM塩化カリウム、2.6mM塩化カルシウム、1.3mM硫酸マグネシウム、1.24mMリン酸二水素カリウム、26mM炭酸水素ナトリウム、10mMグルコース)にて15分間冷却した後、海馬を分離しマイクロスライサーにて約400μmの厚さに薄切した。次いで、スライス標本を上記の混合ガスにて平衡化して室温に保った人工脳脊髄液中に30分間以上インキュベーションした後、細胞内記録用チャンバーに移動し、34℃±0.2℃に加温した人工脳脊髄液(pH7.4)を用いて流量1.5mL/分にて灌流した。約30分間のインキュベーションの後、海馬体・錐体細胞の細胞内記録を開始した。

【0012】細胞内記録には4M酢酸カリウム溶液を滴した先端抵抗40乃至90Ωのガラス電極(先端径1乃至2μm)を用いた。ガラス電極は実体顕微鏡下に海馬体・CA1領域の錐体細胞層に挿入した。錐体細胞に電極を刺入後、得られた静止膜電位は細胞内記録用アンプにて増幅し記録した。膜の入力抵抗は、0.2nAの陰性電流(200ms幅、0.2Hz間隔)を通電して測定した。実験には静止膜電位が-55mV以上で一定となった錐体細胞を用いた。

【0013】(2) 正常な酸素状態における被検薬の影響

本実験は正常な酸素状態において実施した。即ち、錐体細胞の膜電位及び膜抵抗に対する被検薬の作用は、被検薬の処置5分前及び処置10乃至20分後に-0.1乃至-0.5nAの陰性電流(200ms幅、0.2Hz間隔)を通電したときの膜電位変化(注入電流-膜電位の関係)を指標に、被検薬の処置前後で比較し、対応のあるt検定にて解析した。

【0014】被検薬として本発明物質(ワクシニアウイルス接種炎症皮膚抽出物製剤：商品名ノイロトロビン)を人工脳脊髄液にて最終濃度が0.03乃至0.3NU/mLになるよう希釈して用いた。

【0015】上記被検薬の処置前後での錐体細胞における注入電流-膜電位の関係を図1に示した。図中の各点(測定値)は4例の平均値を示し、被検薬の作用は処置10乃至20分後に評価した。本発明物質の0.03乃至0.3NU/mL処置は、膜電位(回帰直線のY切片)に対して有意な影響を及ぼさなかった。一方、膜抵抗(回帰係数)は0.1NU/mL以上の用量で増加する傾向にあった。

【0016】(3) 低酸素状態における被検薬の効果
まず正常な酸素状態において、被検薬の処置前5分間、処置後10分間にわたり、膜電位と膜抵抗を測定した。その後、人工脳脊髄液中の酸素を窒素に置換して低酸素負荷(記録用チャンバー内の人工脳脊髄液の酸素分圧は60mmHg以下)を行うと同時に、被検薬を処置して、20分間にわたり膜電位及び膜抵抗を測定した。また対照群として、被検薬を添加しない群を設定し、同様の測定を行った。低酸素状態での錐体細胞の膜電位及び膜抵抗に対する被検薬の作用は、対照群と被検薬群の膜電位及び膜抵抗の推移を比較し、一元配置分散分析により解析した。

【0017】正常(低酸素負荷前)及び低酸素状態における錐体細胞の膜電位の変化に対する本発明物質の効果を図2に、膜抵抗の変化に対する効果を図3に示した。図2の各測定値は5又は6例の平均値±標準誤差で示した。対照群と各被検薬処置群における膜電位の基礎値は、それぞれ-69.1±0.9、-67.9±1.5及び-67.6±0.4mVであった。また図3の各測定値は4又は5例の平均値±標準誤差で示した。対照群と各被検薬処置群における膜抵抗の基礎値は、それぞれ28.2±1.2、30.3±2.9及び33.1±2.0MΩであった。

【0018】錐体細胞は低酸素負荷6分前後から顕著な脱分極を示し、20分後には-10mV以下となり、プラトーに達した(図2)。一方、膜抵抗は、低酸素負荷の1乃至2分以内に減少し、その後ほぼ一定で推移した(図3)。本発明物質の0.1NU/mL処置では低酸素負荷に伴う脱分極を抑制する傾向にあり、0.3NU/mL処置では脱分極の有意な抑制作用がみられた(図2)。また、いずれの用量の本発明物質処置によっても、膜抵抗は維持、増大される傾向にあった(図3)。同様に特許第2594222号公報の実施例1記載の製造方法に従って得た本発明物質を用いて試験した結果、市販のワクシニアウイルス接種炎症皮膚抽出物製剤と同様に、低酸素負荷に伴う脱分極に対して用量依存的な抑制効果を示した。

【0019】

【発明の効果】上記の薬理試験結果より明らかなように、本発明物質は低酸素による海馬体・錐体細胞の異常な脱分極を抑制することで細胞障害を防御し、細胞死への移行を遅延する優れた作用を有する。この作用は正常

な錐体細胞ではみられず、低酸素負荷による病態時にのみ発現することを特徴とするものである。

【0020】虚血状態における神経細胞の異常な脱分極を抑制する機序として、電気生理学的には $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ポンプの活性化、 Na^+ または Ca^{2+} チャンネルの阻害、 K^+ または Cl^- チャンネルの活性化が示唆される。このような虚血状態での神経障害の過程において神経細胞の脱分極を抑制する薬剤は、虚血により直接的に誘因される疾患である脳梗塞を治療しその悪化を予防するだけでなく、虚血に伴う海馬体の障害に基づく脳血管性痴呆等の記憶、意識障害を改善・防御することはもとより、異常な脱分極に対する抑制作用の上記作用機序を考慮すると、虚血による中枢及び末梢の神経障害、特に運動神経並びに知覚神経系の異常興奮に起因した随伴症状も改善する可能性があり、本発明物質は各種の虚血性疾患を治療・予防する薬剤として有用なものである。

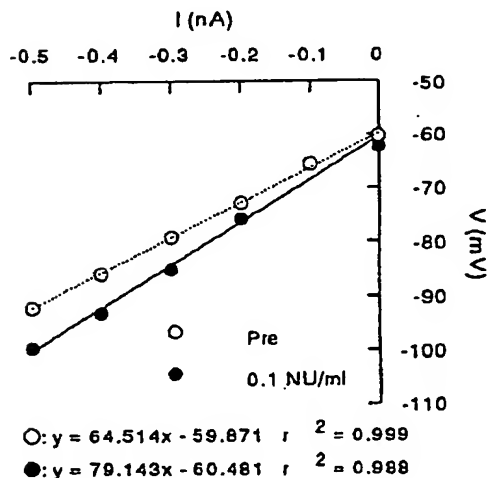
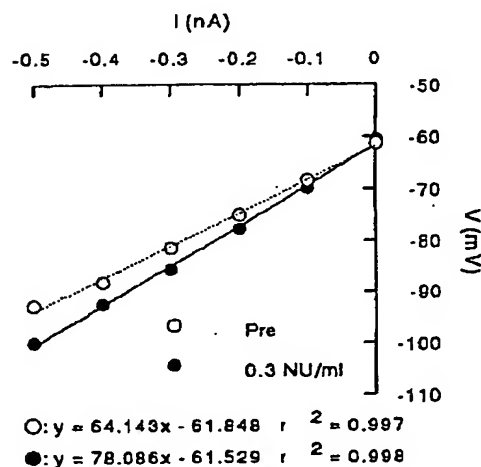
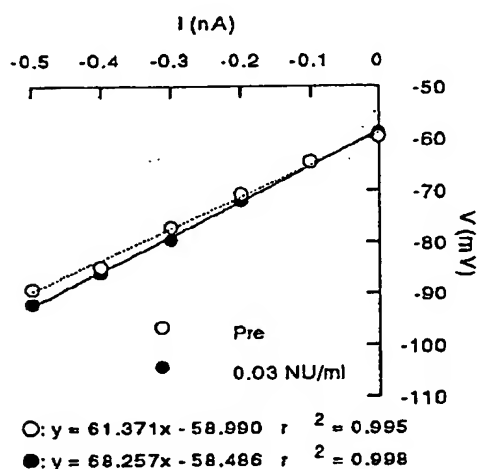
【図面の簡単な説明】

【図1】図1は海馬体CA1領域の錐体細胞における注入電流-膜電位（I-V）の関係に及ぼす本発明物質の影響を示した図である。図中の白丸は対照群、黒丸は被検薬処置群であり、被検薬（本発明物質）の用量は図中に示した。

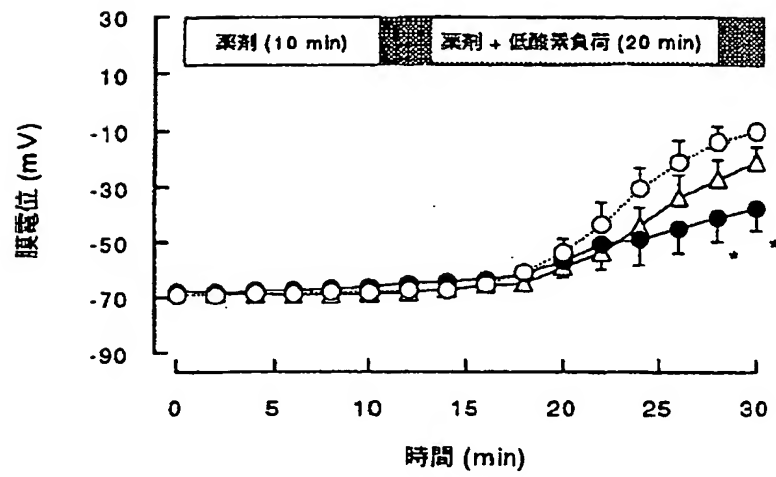
【図2】図2は低酸素負荷に伴う海馬体CA1領域の錐体細胞における膜電位変化に対する本発明物質の作用を示した図である。図中の白丸は対照群（人工脳脊髄液のみ）、白三角は本発明物質処置群（0.1 NU/mL）、黒丸は本発明物質処置群（0.3 NU/mL）であり、Bonferroni多重比較により対照群と比較して $p < 0.05$ で有意差があったものに*印を付した。

【図3】図3は低酸素負荷に伴う海馬体CA1領域の錐体細胞における膜抵抗変化に対する本発明物質の作用を示した図である。図中の白丸、白三角および黒丸は図2と同様である。

【図1】



【図2】



【図3】

